

⑨日本国特許庁
公開特許公報

⑩特許出願公開
昭52—102419

⑪Int. Cl.²
C 12 K 3:00

識別記号

⑫日本分類
30 D 4
30 D 01
36(2) B 3

庁内整理番号
6667—44
6667—44
7235—49

⑬公開 昭和52年(1977)8月27日

発明の数 1
審査請求 未請求

(全15頁)

⑭乳酸桿菌製剤

①特 願 昭51—19226

②出 願 昭51(1976)2月23日

③発 明 者 秦興世

大阪市阿倍野区松崎町2丁目3
番地の44

同

秦忠世

富田林市伏見堂町95番地

④発 明 者 丸岡俊之

豊中市蜷ヶ池中町2丁目1番3
号

⑤出 願 人 財団法人成研会

富田林市伏見堂町95番地

⑥代 理 人 弁理士 水田一孝

明 細 書

1 発明の名称

乳酸桿菌製剤

2 特許請求の範囲

- 1 従来公知の乳酸桿菌を培養するに当り、下記C物質の添加により、発育促進を示す培地以外の培地に、下記B物質、N物質およびC物質の何れか単独ないし何れか2者ないし何れか3者さらにはそれらの組合の何れかによつて発育必須ないし発育促進作用を受ける乳酸桿菌単独または複合種を含有する感染ならびに感染症用乳酸桿菌製剤。

(i) B物質: Na_2S 又は H_2S 等によつて代表されるS化合物

(ii) N物質: NH_3 又はインドール又はスカトール等によつて代表されるN化合物

(iii) C物質: 低級脂肪酸

- 2 乳酸桿菌に胆汁抵抗性を付与せしめた特許請求の範囲第1項記載の乳酸桿菌含有製剤。

(i)

- 3 抗生物質を形成する乳酸桿菌を使用する特許請求の範囲第1項記載の乳酸桿菌含有製剤。

- 4 各種抗菌剤に抵抗性を付与せしめた乳酸桿菌を使用する特許請求の範囲第1項記載の乳酸桿菌含有製剤。

3 発明の詳細な説明

本発明は現在、医学で治療に難渋せる疾病のうち、主として感染並びに感染症の治療に使用される乳酸桿菌を含有する乳酸桿菌製剤に係るものである。

細菌が生体内に侵入して増殖することを感染と呼称するが、一度細菌が、生体内で増殖を始め、それに対して生体が種々の反応を示し出す(感染症と呼称)と発熱、発赤、腫脹など種々の現象が現われる。この時点で、抗生物質など薬剤の使用が適切であると感染症は治癒に向うべきものである。

ところで抗生物質使用の時期を失したり、使用法が不適切であつたり、途中で使用が中断されたり、或は飲酒など、とにかく予想外の種々

(ii)

な行為があつたり、又抗生物質が局部に十分に到達しないと言う様な種々な現象が病原菌の被感染体よりの撲滅乃至は排除を妨害し、治療が不成功に終る場合が非常に多く、かくて感染症は、場合によつては、長期化し、或いは、一層悪化して現代の医学では治療の困難な疾病へと、転化して行くが、本発明の乳酸桿菌製剤（以下本剤と略称する。）は、かかる疾病に対して特に有効である。

それらの代表として、難疾に属する場合のある鼻炎、胃腸炎、歯槽膿漏、会陰裂傷、並びに痔疾の場合等を引例して、本剤使用による炎症治療のメカニズム、及び治療例等を詳細に説明する。

(1) 鼻炎

鼻部をひいて鼻汁が出ている所へ、何等かの理由で病原性を有する細菌が感染し、鼻腔内で多量に増殖し、毒素を形成し始める場合がしばしば存する。毒素に対して生体は反応して所謂炎症が発生し、その程度や質により鼻

(3)

者の状態に依つても異なるが、早い場合2日後、遅い時でも15日前後で明瞭に病原菌の退去が現われ、それと共に漸次炎症、腫脹の緩解、消散、粘性膿液の融解、減少、病巣面の清浄化等、症状が明らかに治癒に向つている場合が確認された。この場合、ワサビ、トウガラシ、カレー等、乳酸菌に対して抗菌性を示す物質ないし、抗生物質のごとき薬剤が鼻腔中に、侵入すると場合によつて、治療の進捗状況が、著しく暗転する事がある。これは主として、該抗菌性物質が本発明の乳酸桿菌の増殖を抑制するからで、この様な場合には、予め上記物質に対して耐性にした本剤を使用する事が是非とも肝要である。

さらに、副鼻腔炎等において、抗生物質、消炎酵素を併用する療法は、現在、好んで用いられている療法の一つであるが、かかる最新の治療に於いても膿汁の形成著しく、改善のきざしの見え難い患者もしばしばで、かかる場合、外科的処置を要するのが普通である。

(4)

るとはいえ、各種物質が滲出し、漸次その様相は激しさを増す、抗生物質を用いても鼻汁は一層粘稠で、これら薬剤はかかる粘性液や膿を突破し難く、治療は困難を極める。さらに、消炎酵素の併用さえも、かかる症状に対しては、病状の進行を遅滞せしめる程度で、期待するほどの効果を現わしそうにもない。

以上の事は唯単に抗生物質の使用では完全に、治療されない場合も多い事を物語っており、かかる状況に於いては薬剤への抵抗株が出現し、且つ漸次疾病は慢性化の度を迫め、悪化する等の二次反応が必ずみられ、ほとんどの場合、良い結果にはなり得ない。この様な場合、一般に残された治療法の一つは摘出であるが、かかる外科的手段に依る場合も、又は依らない場合も、本剤（この場合、抗生物質を形成する菌を使用した本剤が好適である。）の適切な使用が有効で、該本剤を炎症部に多量に、場合によつては、頻度高く、使用すると、漸次菌の交代現象が起こり、思

(4)

しかし本剤を用いる事により、外科的処置に至らず、治療した例が、かなり存する。

(2) 盲腸炎

その重要原因の一つは病原微生物の感染である。盲腸炎は一般に知られる危険以外に、盲腸より、漸次排出される炎症起因の病原菌が、その上下腸管に分散して生存し、盲腸摘出手術後も依然として残るのが普通でかくの如き感染症に於いては、その局部を排除しても、病原菌が、その付近に散在、頑強に生存し、あるいは、院内感染に於けるが如く、患者や医師の思わくとは別途に、汚染される場合もあり、しかも此の様な現象は、ある程度は防ぎようがないもので、一般には、抗生物質の多量使用により、切り抜けているが、それでも病原菌の増殖する事はしばしばで、この様な場合も、本剤を使用すれば、本発明の乳酸桿菌が炎症時同様、術後も生体内に生存する病原菌、生体反応として存在する細胞や膿液を中心とする排泄物や滲出液を消化ないし変

(5)

せしめて、治療は早い場合が認められる、此の様な場合も、抗生物質の使用は早く、従つて菌には抗菌剤に対して、抵抗性を付与せしめておく事は当然である。

④ 胃腸炎

その他、病原性細菌に依る胃腸炎、例えば腸炎ビブリオ、赤痢、サルモネラなど、菌による炎症においては、患者が抵抗力のない場合（例えば乳幼児、老人）衰弱して、現在でも死に至る場合も稀ではないが、通常は適切な抗生物質の使用で、数日を経過して徐々に、治癒へと向う、しかしこれらの病原細菌には、使用される抗生物質に耐性を持つ菌株もかなり存在し、この様な場合、抗生物質のみでは快復は望み得ず、さらには慢性型の疾病へと、移行し、往々にして二次的疾患の発病が混入する。よつて慢性化する前に治癒せしめる事は、医術上最も大切な事であり、そのためには、本剤の多量投与ないし抗生物質との併用が望ましい。また適切な薬物での投与で、数

(7)

として、歯槽膿瘍などにおいて非常に高い頻度で見える事が出来る。これは薬物の効果が不十分である事も勿論であろうが、病原菌の菌量が多く減少した時点で、なお歯根組織の修復が完全でない事に主たる原因がある。

その場合、口腔中及び歯間、歯根中などに残存している細菌及び病原菌が、その内に再び活動するようになつて、元の悪い状態に近く復元してしまふ。此の様な疾病において、病原菌の減少した時点では、殊に本剤を投与する事が何よりも大切である。それによつて残存していた病原菌は本発明の乳酸桿菌と菌量比の逆転が生じ、炎症と浮腫などの併存した歯根の状態が著しく改善され、色調が良くなる。

すなわち緊急を要する局処の病原菌や、雑菌の殺滅には、抗生物質を使用し、しかる後生体反応的炎症像の改善には消浄化作用の強い本剤が使用されるのである。

(8)

特開 昭52- 102419 (3)

日を経て、治療の方向にある場合さえも、本剤の投与により、患部の著しい緩解と、原因の抜本的除去を図り、よつて快復を早める手段の採用が推奨される。

⑤ 喀痰

喀痰は膿汁などと同様、生体の一病態反応として形成され、それが又、生体への刺激物となつてさらに喀痰が形成されるもので病状が進行すれば、その形成は、とめどのないものである。それは慢性の副鼻腔炎において見られるのと同質のものである。これらの場合も肺内におけると同様に喀痰中の栄養が、本発明乳酸菌によつて変化、分解、乃至変性されて、結果として消浄化される。

⑥ 歯根炎

例えば抗生物質及び消炎酵素で炎症部位の退散を計つた場合、それが不十分に行なわれる場合がしばしばある、それは菌が抗生物質及び消炎酵素及び生体の反撃力で退散せず、生存繁殖している場合で最も良く観察出来る例

(8)

M (痔) :

痔の原因については従来極めて多くの解釈が行なわれて来たが極く最近に到つて、その解釈は、比較的整然と統一されたものとなつた。

その原因の第一は病原細菌の感染、すなわち原因菌の種類と量に深く係わり、第二は腸内細菌すなわち菌叢感染と、大なる相関関係が存在し、第三は腸管ならびに肛門部位の構造自体、第四は局所への刺激の大小及びに連続の度合、すなわち便の固さや、便秘など、第五は生体の反応の仕方すなわち傷のつき具合、その部位の回復力、すなわち体質、第六は血の程度形などに關係を有する。以上の事柄を再度検討すれば痔の原因の内の特質である創傷、裂傷、及び細菌感染症の内で如何に裂傷が生じてもこれのみでは日常生活をおびやかす重篤なる痔疾になる事は少ない。

すなわち細菌感染症を主因とする幾つかの原因の複合による排除し難い肛門部及びその

00

咽頭の炎症と言う事が出来る。

そして、その形態、症状、程度は原因菌の種類や、腸内細菌との相関、生体の反応力、刺激の程度、部位などによつて全く区々であつて、そのため必ずしも同一視し、同一場で論ずる事が適切ではないが痔は大抵の場合原因として細菌感染が一枚加わっている事は動かし難い事実である。その為一見異つて見える痔の各種の症候も細菌感染症の種々相として認識すべきものでその意味では細菌感染が主因の一つたる炎症の最も典型的なモデルとして理解すべきものでその点では咽喉頭炎や、産道の裂創による各種の炎症と同様である。

且つその最も治療の困難なものの一つとして、「痔」を考えるべきであるが、原因から考えて、本疾病の場合、病原菌の種類、薬物への抵抗力の如何などを見極めること、さらに病原菌の局所浸透性の程度、伝播力などは、にわかには、判じ難いため、薬物の選択の問題はそれのみでも容易ではなへ。

(11)

排除あるいは菌の交代現象として現われる。またこの作用は同時に腸内細菌に対しても作用する。

そして炎症菌及びその周辺に生存する原因菌を排除するのみならず次から次へと襲つて来る腸内細菌に対して防御的に働くのみならず、腸内細菌叢のバランスが変化して、ラクトバシラスが非常に多くなり、腸内細菌中の腐敗性の菌が減少するが故に疾病局所の感染防禦における生体の負担は、著しく減ずる。しかも本剤は強力なる消毒作用を有すること事実も悪臭物質の無臭化においてすでに証明されている所である。

さらに本剤には強力な抗生物質の形成菌が存在するが此の場合病原菌や雑菌に対する排斥作用は一段と強まる。その結果として痔疾症状の軽減を見る場合がかなり多く、時としてすなわち症状の始めから軽度の場合など完全治癒に近い現象の見られる場合すら存する。

なお、以上の感染防禦に関する解析で明ら

その上麗大な菌量にのぼる腸内細菌による汚染をまぬがれる事は出来ないために薬物の使用は、対病原菌用としては適切であつても、その個人固有の腸内細菌に対して適切か否かは、又別問題で、この2点に対して投与薬剤の種類の設定は一層困難となる。

しかも、それ以外にも原因が錯そうし、痔の種類は衆知の如く多く、治療に当つては多くの実際治療経験その他から種々の事が言われているが、今後とも長く人類を悩ます問題である事は間違いない所である。しかし本剤の使用は之れに光明を与え疾病治療分野における一つの進歩となるのである。

概括して考えてみても、第一にここに使用される特殊乳酸桿菌は他の生菌を大抵の場合抑制、排除する特性を有する。

この事は糞便の脱臭作用の過程で明らかにされた事実である。

この作用は同様に局部に病巣を形成して生存する病原菌に対して作用し、これを抑制、

02

かな如く感染部位が常に強烈なる刺激と、汚染とを受ける点において、本疾病群は生体炎症中でもとくに顕著なものであつてかくも著しく宿主に対して不利に働く感染と防禦に関する像を他に知る事は比較的少く、疾病におそわれた眼、口腔、歯根、咽喉頭、^{陰部}、及び生殖器、さらに婦人科領域などにおいて手術後において見られる程度である。

なお前文中において痔疾の原因細菌として病原菌を腸内細菌と切り離して記載したが、原因たるべき菌が腸内の病原菌である場合もしばしばである。

(M) 分娩時の会陰裂傷

本剤の経口乃至局部への直接使用は局部の腫脹発赤並びに疼痛など炎症症状の著しい改善に役立つた。

本発明者等は本剤使用の乳酸桿菌に薬剤抵抗性を付与せしめたもの、せしめないもの、又はしばしばよく使用される香辛料に抵抗力をつけたもの、つけないものなどについての実

験を行つた。本剤はその効力が充分に発揮されたことが認められるまでには生体の消炎が充分に完了した事が認められなければならない、それには長期間の炎症、つまり慢性のそれにおいてはその恢復には長期間を要するため、その間如何なる香辛料をも摂取しないなどは今日の食生活においては存在せず実際の治療例においても、此の事は認められた。

そのため場合によつては香辛料抵抗性を付与せしめたり、又抗生物質抵抗性を付与せしめる事は大切な条件である。

此处では広設に行つた実施の内の一部実験データを記載した。

かつて赤色プロトゾールやペニシリンを嚥食とする抗菌剤、抗生物質が開発され、これらは発明思想において新しかつたのみならず生体への副作用が少く、かつ抗菌性を強く有したので、微生物病を含め、生体内外を問はず必要な所で広く用いられて来た。

本剤は、サルファ剤、抗生物質さらに消炎

剤

らである。又糞便中の悪臭物質の種類は例えば各種アミン、低級脂肪酸、アンモニア、硫黄化合物など極めて多く、それらは大抵の場合ある量を超えると生体に有毒性を現わすが此等が無臭化されると言う事は此等の物質が著しく減少したか形を変えた事の証拠であり、菌が自己の体成分としたか、変性せしめたからに他ならない。

しかもこれらの事が悪臭物質を形成する腸内細菌の多数の存在下でそれらの働きを抑えながら行われたのである。本発明の最重要点の一つはこの点にあり、腸内において示されたかかる特性と能力は他の感染部位、感染症においても遺憾なく発揮される。炎症時生体内において遡進して来る細胞や滲出液を本菌は栄養とするのであるがその速度は極めて早く、他の菌につけ入る隙を与えず、菌叢の逆転つまり菌交代現象が見られるのである。

上記の幾つかの治療例は何れも本発明の乳酸桿菌が疾病の原因菌との生存競争に打ち勝

つ

つた事を物語っている。しかも清浄化作用がある事も又脱臭時証明済である（無臭化とは清浄化作用の一つの現はれである。）かくて該乳酸菌は一時は極めて良く増殖するが、栄養物としての炎症滲出物の衰退とともに消滅する。

本来、本剤は経口的に投与して、排便時すでに糞便特異臭を著しく減弱せしめる著しい特徴を有する。すなわち 10^4 個/9以上に及ぶ多数の菌が定着し、すでに固有菌叢を形成し終つている腸内で、それらに対して優位性を獲得しながら自己が増殖する。

これは本発明乳酸桿菌がほとんどの腸内細菌よりも増殖速度が速く、栄養要求が低く、かつ抗生物質を形成するなどのため他の腸内細菌との生存競争に打ち勝つ能力を有するか

ら

つた事を物語っている。しかも清浄化作用がある事も又脱臭時証明済である（無臭化とは清浄化作用の一つの現はれである。）かくて該乳酸菌は一時は極めて良く増殖するが、栄養物としての炎症滲出物の衰退とともに消滅する。

本発明の効果を確認すると抗生物質がただそこに存在する細菌を殺滅するのみの作用を有するに對し、本剤は①病原性が認められず、②抗生物質を形成して細菌を殺害し、③維菌ないし病原菌との競争で勝利し、④悪性を含む生体代謝産物を自己の菌体成分に変化せしめるか、あるいは変性せしめ、⑤その結果局所の清浄化も進み、⑥消炎、抗腫脹作用が認められるに到り、⑦最終的には炎症が鎮静すれば該乳酸桿菌は生体内では異物である為又非病原であるためついには生体内で吸収される。よつて上記に述べて来た病因論からみても又実施段階から見ても生体構造上、使用不可能な所を除いては本発明剤が広く用い

ら

られてかなりの効果をもげる事が出来る。

又此等の作用は、消炎抗腫脹、緩解性の酵素との併用により一層効果的な場合のある事も認められた。すなわちかかる作用効果の酵素の使用のみでは基本的には炎症の原因が微生物による場合、これらの微生物を一掃しきる事は不可能で、その為抗生物質を使用するのであるが、炎症腫脹の軽減は認められても、充分なる効果の認め難い場合も多くかかる場合、本剤の使用により菌の交代現象が生じ結果として、著効を現はす場合が少くない。

次に、本発明使用菌群の病原性の有無について元来、細菌学の歴史はバクトールの乳酸菌に關する研究から始まつた。(1857)爾來牧草にいとまないうクトバシラス(*Lactobacillus*)に關する研究においても本群細菌が病原性を有するといふ積極的な証拠となる学術報告はないとさえ言われている。今日信用あるとされるラクトバシラスに關する論文でも動物植物に対して病原性はないと記されているし、

89

低性は、その一点のみでも極めて高いものとなる。

今回の新菌群は栄養要求の点を除けば、ラクトバシラスの従来の定義にすべて一致している。即ち、かかる菌は、これまでの細菌分類学上の手法によればラクトバシラスその物と云ふべきであり、さらには相違点である栄養要求性については現在の所菌分類学上の鍵としては漠然とした表現の域を出ていない。

そのため本発明者等は現時点で、あくまで本発明使用菌をラクトバシラスと考えているが、百歩を譲つて将来分類学上の観点が変わり、別の部位に位置づけられる事態になつても、本発明菌群がラクトバシラスに極めて近い菌群に位置づけられると考えられる。

この分類学上ラクトバシラスその物、又は百歩を譲つてもそれに近縁の菌といふ点は本発明使用菌の病原性の有無について論ずる場合とくに重要である。

本発明者等が経口用脱臭菌を求めるに際し、

特開 昭52- 102419 倫

バージースマニアル(Bergey's Manual)(1974)

においても、該菌群に属するもので病原性のものは極めて稀有である事が明記されている。

本発明者等の研究でラクトバシラスは生体にとつて、ことに粘膜部において必須に近いことが判明しており、少くとも口腔内、腸内、腔内でラクトバシラスは必須である。例えば腔部において、ラクトバシラスの欠損している場合、腔の正常状態を維持することは、ほとんど不可能で、現在では腔部の健康程度の診断における一重要項目となつている。

ところで本発明に使用される菌は、分類学上は明確にラクトバシラスに属しながら、従来知られなかつた点を有する菌群であるため、非病原か否かについては、従来全く知られざる所である。

本質的問題として、先づ本発明に使用する新菌群が真の意味においてラクトバシラスに属するか否かの点がある。もし間違いなくラクトバシラスに属しているなれば非病原の可

90

他の菌群たとえばシュードモナス属(*Pseudomonas*)などの中からの方が、より求め易い菌が強くたにかかわらず、困難を承知でラクトバシラスから求めたのも、古来、非病原である事が認められているに止らず、むしろ有益菌として理解する事が、真実ないし真実に近いものと思われ、ことに腸内における細菌叢中の有力メンバーであり、さらには最緊要不可欠の菌として受けとめるのが、正解を得たものと推測される点にあつた。

事実、実験開始の当初、たとえ希望通りの脱臭菌か分離培養出来たとして、経口投与により、排便の生理、その他日常生活にいちじるしい異常性を与える懸念を強く抱いたにもかゝらず、かかる作用菌を分離し、その後種々のテストを行うに到る原動力となつた一つは、かかる観点あるがゆへでもあつた。

本発明者等は各種動物にテストを行い、最終的に人間および犬において培養洗菌菌(*Wet Q2P/KP*)を殆んど毎日連続、ときに2、3日

間隔で2ケ年に亘つて投与を続けたが、何ら病原性を見出す事が出来なかつたのみならず、被検台となつた人間のすべてから疲労の減少や健康の増進が自覚症状として認められたとの報告を受けた。又犬においても、常時獣医師[※]かかりつけの犬(2頭)が元気を取り戻し、獣医師の厄介を離れる事が出来たとの報告を受けた。

従つて、人間への経口投与の場合、急性毒性はおろか、亜急性ならびに慢性毒性はまず認められない。又マウス50匹を用い、洗滌冷却遠心菌塊1mg/gを3倍量の生理食塩水に懸濁、腹腔内に注入した場合、24、48、72時間、更に1週間、1ヶ月、3ヶ月後においても対照と何ら相違を認める事が出来なかつた。

即ち、この注入量を体重60kgの人間に応用したとすれば、60gの菌塊を腹腔内に注入してなお急性から亜急性に亘り異常を認め得ない事を意味しており、病原性については何ら心配がない。

四

第 1 表

培 地	胆 汁 末				
	0%	1%	2%	3%	4%
B-W培地+カザミノ酸	+	+	+	++	+
B-W培地+Na ₂ S	+	+	+	++	+
肉エキスパイヨン	+	+	+	++	+

+, ++ は夫々発育度を示し

+, よく発育

++, 更によく発育

+, + と ++ の中間の発育度

B-W培地: KH₂PO₄ 1g, MgSO₄ 7H₂O 0.7g, NaCl の組成
1g, (NH₄)₂HPO₄ 4g, FeSO₄ 7H₂O 0.03g
グルコース 5g

四 栄養要求性

従来既知の乳酸桿菌がアミノ酸、ペプチド、核酸関連物質、ビタミン、塩類脂肪酸又はそのエステル糖類等を発育に必要とするのに反して、本発明の乳酸桿菌は一般の乳酸桿菌に較べ栄養要求が著しく低い、Kもかかわらず、

四

特開 4352- 102419 の

次に本発明者等によつて、分離培養に成功した本発明の乳酸桿菌の性質、ならびに製造法を下記に詳細説明する。

四 胆汁抵抗性

本菌が腸内に於いて、充分によく活躍し得る為には、胆汁に対して抵抗性もしくは親和性を有している事は必要不可欠である。

本剤に使用される代表的な菌株 L₁₀₂₇₋₂₈ 菌の胆汁抵抗性を第1表に示した。

本発明者らが分離に成功した本剤に使用可能な他の乳酸桿菌群の代表例としての L_{1020-B-19}、L_{1020-C-20}、L₁₀₃₀₋₁₈、L₁₀₃₀₋₁₇ に付いても、基礎培地により多少の違いはあれ、胆汁に対して L₁₀₂₇₋₂₈ 菌と、ほぼ同様の成績を示した。即ち、何れの菌株も4重量%、胆汁末添加の培地で充分よく増殖し得た。

勿論胆汁抵抗性を有しない本剤も使用部位によつて充分その効果を発揮する。

四

菌株名	基礎培地	基礎培地に加える物質名										
		無 基 加	含 硫 ア ミ ノ 酸	環 状 ア ミ ノ 酸	環 状 ア ミ ノ 酸	シ ス チ ン	シ ス チ ン	メ チ オ ニ ン	カ ザ ミ ノ 酸	十 ビ タ ミ ン	カ ザ ミ ノ 酸	酵 母 エ キ ス
L ₁ 1027-28	(A)	—	+	+	—	+	+	+	+	+	+	+
	(B)	—	+	+	—	+	+	+	+	+	+	+
L ₁ 1020-B-19	(A)	—	—	—	—	—	—	—	—	+	+	+
	(B)	—	—	—	—	—	—	—	+	+	+	+
L ₁ 1020-C-20	(A)	—	—	—	—	—	—	—	+	+	+	+
	(B)	—	+	—	—	—	—	—	+	+	+	+
L ₁ 1030-10	(A)	—	+	—	—	+	+	+	+	+	+	+
	(B)	—	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
L ₁ 1030-17	(A)	—	—	—	—	—	—	—	—	+	+	+
	(B)	—	—	—	—	—	—	—	+	+	+	+

(A) : B, W 培地, (B) : S, W 培地 (+ 寒天)

+: 普通の発育程度

++ : よく発育している, +++ : 非常によい発育程度

± : わずかに発育している程度

— : 発育しない

B, W 培地組成 : (KH₂PO₄ 1 g, MgSO₄ 7H₂O 0.7 g, NaCl 1 g, (NH₄)₂HPO₄ 4 g, FeSO₄ 7H₂O 0.03 g, グルコース 5 g)

(25)

2 日以内程度の短い期間でよく発育増殖し、
乳酸を形成する。

基礎培地として B-W の培地及び B-W +
寒天の培地を使用して増殖した結果を第 2 表
に示した。

(1) 増殖速度 (μ)

本発明の乳酸桿菌は第 3 表に示す如く、低栄
養培地にかかわらず、驚くべき増殖速度を
示す。対照として、一般の大腸菌の場合の数
値も記した。

第 3 表
基礎培地・B-W 培地

項目 菌株	基礎培地に 添加する成分	μ	B, N, C 並び に含硫アミノ 酸	大腸菌
L ₁ 1027-28	含硫アミノ酸	0.53	必	0.4
L ₁ 1030-10	B, N, C	0.53	必	0.35
L ₁ 1020-C-20	ビタミン	0.49	促	0.38
L ₁ 1020-B-19	ビタミン・含硫 アミノ酸	0.48	必	0.43
L ₁ 1030-17	ビタミン・含硫 アミノ酸	0.48	必	0.43

B : S, 化合物

Na₂S 又は N₂S

N : N, 化合物

アンモニア又はインドール
又はスカトール

C : C, 化合物

低級脂肪酸 (酢酸、酪酸など)

必 : 発育に必須

促 : 発育促進を示す

即ち、従来既知のラクトバシラスが、栄養
要求が高く、かつ発育速度も病原菌に比し
て大きくない場合も多いのに対して、本発
明の乳酸桿菌は一般に知られる病原菌との
発育競争に打ち勝つ性能を有している。

□ 本発明の乳酸桿菌の鏡検並びに、培養所
見を第 4 表に、一般生化学的性状を第 5 表に、糖
分解性を第 6 表に示した。

第 4 表

飼料並びに培養所見

	L ₁ 1020-B -19	L ₁ 1020-C -20	L ₁ 1030 -10	L ₁ 1030 -17	L ₁ 1027 -28
グラム	+	+	+	+	+
形 状	短桿菌両 端丸い 鞭毛芽胞	球桿菌 鞭毛 芽胞	球桿菌 鞭毛 芽胞	短桿菌 両端丸い 鞭毛芽胞	短桿菌 両端丸い 鞭毛芽胞
疾 菌	ない	ない	ない	ない	ない
運動性	なし 嫌気性	なし 嫌気性	なし 嫌気性	なし 嫌気性	なし 嫌気性
普通寒天+糖+ビタ ミンの増殖にて	円形小型 コロニー	同 左	円形小型 コロニー	円形小型 コロニー	円形小型 コロニー
隆 起	半球形	同 左	低い	厚い	厚い
表 面	平滑反側	同 左	同 左	同 左	同 左
周 囲	平滑	同 左	同 左	同 左	同 左
色	乳白色 不透明 粘 稠	同 左	白 色 不透明 粘 稠	乳白色 不透明 粘 稠	乳白色 不透明 粘 稠

(29)

第 6 表 糖 分 解 性

	L ₁ 1020 -B-19	L ₁ 1020 -C-20	L ₁ 1030 -10	L ₁ 1030 -17	L ₁ 1027 -28
グルコース	+	+	+	+	+
ガラクトース	+	+	+	+	+
フラクトース	+	+	+	+	+
サリシン	+	+	+	+	+
アラビノース	-	+	-	-	-
キシロース	-	-	-	+	-
サツカロース	+	+	+	+	+
イノシット	-	-	-	-	-
デストリン	+	+	±	±	-
マンニット	-	-	-	-	-
ノレビオース	+	+	+	+	+
リボース	+	+	+	+	-
ラクトース	+	+	+	+	+
ラフィノース	-	-	+	+	-
スクーチ	+	+	+	+	+
イスリン	-	-	-	-	-
ソルビット	-	-	-	+	-
マルトース	+	+	+	+	+
ノレジット	-	-	-	-	-
マンノース	+	±	+	+	-

(31)

第 5 表 一 般 性 状

	L ₁ 1020 -B-19	L ₁ 1020 -C-20	L ₁ 1030 -10	L ₁ 1030 -17	L ₁ 1027 -28
アンモニア生成	-	-	-	-	-
硫化水素生成	-	-	-	-	-
インドール生成	-	-	-	-	-
カタラーゼ生成	-	-	-	-	-
色素の生成	-	-	-	-	-
ゼラチン凝固	-	-	-	-	-
クエン酸利用	-	-	-	-	-
尿素の分解	-	-	-	-	-
M.R 反応	+	+	+	+	+
V.P 反応	-	-	-	-	-
硝酸塩の還元	-	-	-	-	-

(30)

III 抗生物質産生能

ラクトバシラスの中には抗生物質を産生する菌株が存在する事は既知の事実であるが、本界の乳酸桿菌は、全て、抗生物質を形成する能力を有する。この能力により他菌の発育増殖を抑制せしめ、胆汁、唾液、母乳、その他有毒物質が生成されていく過程をブロックし、本菌の種々の菌性能が一段と高まるのである。

普通寒天+糖+ビタミンの増殖で、シャーレの中央に本菌を接種培養し、37℃、2日先行後、グラム+の代表としてブドウ球菌、グラム-の代表として大腸菌を接種した場合の阻止距離の1例を第7表に示した。

実際には培養組成、継代方法、保存方法などにより、第7表に示したよりも数倍量の抗生物質を形成する場合、又は殆んど形成しない場合もある。

(32)

第 7 表

菌株名	停止距離 (48hrs 先行培養)	
	ブドウ球菌	大腸菌
L 1027-28	20 mm	24 mm
L 1020-B-19	15 mm	18 mm
L 1020-C-20	15 mm	20 mm
L 1030-10	12 mm	15 mm
L 1030-17	18 mm	22 mm

(2) 次に本発明に使用される乳酸桿菌が糞便中の各種有機成分を培地に添加することによつて、基礎培地により幾分か異なるが、発育必須となつたり、発育刺激を受ける様子を第8表に示した、なお表に示した以外のB、M、C、物質の添加によつても、よく似た成績を得た。

なお、従来既知のラクトバシラスは栄養良好なる発育可能培地、例えば乳酸桿菌のための代表的培地であるMRBの如き培地を使用

(33)

した場合、酢酸の添加により発育が刺激される事が知られているが、それはあくまでも良好な培地組成中であつて、本発明ラクトバシラスにおける如き、低栄養培地においては本来発育出来るものではなく、従つて酢酸の添加によつて発育刺激を受けることもない。

そして本発明に使用される乳酸桿菌は第9表の低栄養ないし、中栄養の内の低い栄養の培地において酢酸添加によつて発育刺激を受けるが、中栄養の内の上以上の栄養の良好な培地においては、酢酸の添加によつて発育刺激を受けることはない。

なお従来知られているラクトバシラスには本発明でいう低栄養ないし、中栄養の下以下の培地に酢酸を添加した場合、発育が促進される菌は知られていない。

第 8 表

(A) : B, W 培地
 (B) : B, W 培地
 (+寒天)
 (C) : ペプトン 8g
 グルコース 2g
 (D) : ペプトン 10g
 肉抽出物 5g
 NaCl 5g
 グルコース 1g

菌株名	基礎培地	基礎培地に加える物質名							
		無添加	酢酸	アンモニア	プロピオン酸	Na ₂ B	酪酸	スクトール	糞便汁
L 1027-28	A	—	+	+	+	+	+	+	+
	B	—	+	+	+	+	+	+	+
	C	+	+	+	+	+	+	+	+
	D	+	+	+	+	+	+	+	+
L 1020-B-19	A	—	—	—	—	—	—	—	+
	B	—	—	—	—	—	—	—	+
	C	+	+	+	+	+	+	+	+
	D	+	+	+	+	+	+	+	+
L 1020-O-20	A	—	—	—	—	—	—	—	+
	B	—	—	—	—	—	—	—	+
	C	+	+	+	+	+	+	+	+
	D	+	+	+	+	+	+	+	+
L 1030-10	A	—	+	+	+	+	+	—	+
	B	—	+	+	+	+	+	+	+
	C	+	+	+	+	+	+	+	+
	D	+	+	+	+	+	+	+	+
L 1030-17	A	—	—	—	—	—	—	—	+
	B	—	—	—	—	—	—	—	+
	C	+	+	+	+	+	+	+	+
	D	+	+	+	+	+	+	+	+

(35)

第 9 表

	公知の乳酸桿菌	脱臭性乳酸桿菌
低栄養	発育しない	条件(A)によつて発育必須か又は発育促進を受ける。
中 栄 養	下 発育しえても、条件(A)によつても無反応か、又は発育阻止の傾向	条件(A)によつて発育促進を受ける。
	中 C物質の添加によつて発育促進を受ける場合も存在する、(培養初期) N物質、S物質の添加はむしろ発育阻止の傾向(培養全期)	条件(A)によつて、基礎となる培地組成によつて、発育促進を受ける場合もあるが無反応の場合もある。
	上 C物質の添加により発育促進を受ける場合も存在する(培養初期) N物質、S物質の添加はむしろ発育阻止の傾向(培養初期)	条件(A)によつて、発育促進は認め難い。
高栄養	C物質の添加によつて培養初期に発育促進を受ける、S物質、N物質の添加は無反応である。	条件(A)によつても、発育必須又は発育促進は認めず
備 考	S物質……… Na_2S 、 $9\text{H}_2\text{O}$ 、 N物質……… NH_3 、スクアール、又はインドール C物質………酢酸 添加量………何れも 2g/1000 ml	

(36)

と呼称することとする。

又、中栄養の上とは、高栄養培地組成と同じで、その栄養含有量が $1/3 \sim 2/3$ のものと規定した。

なお、低栄養の場合と同様に④のビタミンズとカザミノ酸の代りに何らかのビタミンと何らかのアミノ酸を(B-W)に添加したのも中栄養培地として包含される。

又、高栄養培地とは、過去数多くの文献で紹介された様な乳酸桿菌の増殖用に、極めて良く適している培地であつて、例えばMRB培地など、これらに限らず菌学的特徴から、従来よく知られている乳酸桿菌が良く増殖出来る培地組成であれば如何でもよく、アミノ酸類、ペプチド、核酸関連物質、ビタミンズ、無機塩類、脂肪酸又はそのエステル、糖類などを程よく包含している培地であればよい。

なお、前記乳酸桿菌5株は2例であつて、以上の様な性質を兼ね備えている乳酸桿菌なら、効力の差はあるとしても何れも本剤に依

(38)

特開 昭52- 102419(II)

第9表に示す低栄養、中栄養ならびに高栄養の培地とは乳酸桿菌の菌学的特徴に鑑みて、3群に大きく分類し、さらに中栄養を3分類したもので勿論、他の細菌にそのままではまるべき性質のものではない。

なお、ここに示す低栄養培地の組成は最高(B-W)+ビタミンズ+含硫アミノ酸(3種混合)までで、ビタミンズの替りに特定のビタミンで、含硫アミノ酸(3種混合)の替りに特定の含硫アミノ酸で代用してもよくまた、両者を全く含まないものでもよい。即ち、上述に示した培地組成以下の栄養の場合の総てを、本文の低栄養培地と呼称することとする。(第3表参照)

又、9表で示した中栄養培地の下とは④(B-W)+ビタミンズ+カザミノ酸並びに⑤ペプトンを基調とせるものでこの基調となる培地に他の栄養有機物質(例えば、酵母エキス、肉エキス等)を単独又は複合添加したもの(合計添加量0.2%以内)を中栄養の中

(37)

用することが出来る。

また、抗生物質産生能は、側面から、該菌の働きを助けるという意味で、非常に重要であるが、この能力が存在していなくても場合によつては、充分効果を発揮し得ることが実験の結果から明らかとなつた。

(H) 本剤の製造法の一例、示せば下記の通りである。

(I) 本発明の乳酸桿菌を培地組成

脱脂ミルク

酵母エキス

CaCO_3

で R.H. 7.4 なる培地に37℃、5日間静置培養し、ついて、冷却遠心分離により、集菌し、真空凍結乾燥によつて乳酸桿菌製剤を製造した。

(II) 本発明の乳酸桿菌を培地組成

B-W培地

KH_2PO_4

$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$

に

$\text{Na}_2\text{S} \cdot 9\text{H}_2\text{O}$

酢酸

(39)

NaCl
(NH₄)₂HPO₄
FeSO₄·7H₂O
glucose

酪酸
プロピオン酸
酵母エキス
Vitamines

Amino acids を添加し、P・H 7.4

なる培地に37℃、3日間静置培養し、ついで菌を損わない様、水分含量2%まで乾燥し、乳酸桿菌製剤を製造した。

本発明に使用される乳酸桿菌は従来公知の乳酸桿菌を培養するに当り、C物質の添加により、発育促進を示す培地以外の培地に、B物質、H物質およびO物質の何れか単独ないし何れか2者ないし何れか3者さらには、それらの複合の何れか^{2以上3以下}によつて発育必須ないし促進作用を受ける乳酸桿菌単独または複合種を含有する。

次に本発明を実施例によつて詳細説明するが本発明は勿論実施例のみに限定されるものではない。

実施例 1

急性副鼻腔炎3例、慢性副鼻腔炎5例、術後性副鼻腔炎2例の患者に本剤を投与した。

投与方法は、(a)水分含量2%の本剤20gを水400ccに溶解し、その溶解液で、1日2回に分けて鼻腔洗浄を連日行つた。

(b)膿性鼻汁の強い患者2例には、テトラサイクリンと併用した。①自覚症状(鼻閉、後鼻漏鼻漏、嗅覚減退、頭痛)及び②鼻腔、鼻粘膜の病的所見(粘膜発赤、腫脹、鼻淵の多少、鼻汁の性状)

③直接及びレントゲン写真よりの診断から著効4点、有効2点やや有効1点、無効0点に分けて治療開始後1週間目及び3週間目の効果の程度を第10表にまとめた。

第 10 表

(患者の氏名を隠す)

1 週 目

(40)

No	Initial of name	年齢性	診断名	併用薬剤	自覚症状	病的所見	レントゲン写真	平均
1	M Q	10 男	急性副鼻腔炎	単独	2	1	1	1.3
2	T K	25 男	"	"	2	2	1	1.7
3	K K	44 男	"	"	1	1	1	1
4	K A	20 男	慢性副鼻腔炎	"	2	2	2	2
5	K K	36 男	"	併用	2	1	1	1.3
6	T K	62 男	"	単独	1	1	1	1
7	K K	61 男	"	"	1	1	1	1
8	T M	18 男	"	"	2	2	2	2
9	T I	26 男	術後性副鼻腔炎	併用	1	2	1	1.3
10	K Q	42 男	"	単独	2	1	2	1.7

(41)

3 週 目

同 上

No	自覚症状	病的所見	レントゲン写真	平均
1	4	2	2	2.7
2	4	4	2	3.3
3	2	2	2	2
4	4	2	2	2.7
5	2	2	1	1.7
6	2	2	1	1.7
7	2	2	2	2
8	2	2	2	2
9	2	4	2	2.7
10	4	2	2	2.7

(43)

第 11 表
(46)

10例の副鼻腔炎患者に本剤を使用して、主として鼻洗浄を行ないその経過を観察し、その治療効果を調べた所、表から明らかな様に、10例中著効1例、有効6例、やや有効2例の成績を得た。又これら実施例の結果、3つの検査項目の全部が0を示したものはなかった。

実施例 2

- 対象：疼痛、腫脹、出血を主訴とする痔核患者10例（16～60才）
- 投与方法：(A)……テトラサイクリン抵抗性ラクタバシラス乾燥菌体（水分2%）のもの、1日15g、5回に分けて経口投与

(B)……同一菌体を半量のクリームに混ぜ、局部に1日5回塗布

(C)……テトラサイクリン軟膏を局部に1日5回先づ塗布した。

即ち、テストは(A)+(B)、(A)+(C)、(B)+(C)の3種類について先づ検討した。

- 効果判定：自覚症状および傍視所見とし、

①自覚痛、②出血、③腫脹、④痔核の大きさの程度、⑤肛門部の臭

(44)

氏名	自覚痛	出血	腫脹	痔核の大小	臭和感	平均値
Y.T.	1	1	1	1	1	1
K.H.	2	2	1	1	1	1.4
M.M.	4	4	2	2	2	2.8
T.S.	1	1	1	1	1	1
T.H.	1	1	1	1	1	1
K.K.	2	1	1	1	1	1.2
M.Q.	2	2	2	2	1	1.6
S.B.	1	1	1	1	1	1
K.K.	1	2	1	2	1	1.4
T.Y.	1	1	1	1	1	1

悪化をいし、無効の少ないのが特徴である。

(46)

特開 昭52- 102419 (13)

和感の5項目について、何れについても、「著効+4」、「有効+2」、「やや有効+1」、「無効0」、「悪化-2」、の5段階に分けて評価した。

判定は、7日目、14日目及び21日目とした、第11表は投与開始後7日目および21日目のもので、(A)+(B)+(C)の実験成績についてのみ示した。

(45)

氏名	自覚痛	出血	腫脹	痔核の大小	臭和感	平均値
Y.T.	2	2	2	2	2	2
K.H.	2	2	2	2	2	2
M.M.	4	4	4	2	4	3.6
T.S.	1	1	1	1	1	1
T.H.	2	2	2	2	2	2
K.K.	2	2	2	2	1	1.8
M.Q.	4	4	2	2	2	2.8
S.B.	2	1	1	1	1	1.2
K.K.	2	2	2	2	2	2
T.Y.	2	1	1	1	1	1.2

5 週 後

-107-

(47)

これらテスト結果の特徴は、5つの検査項目の全部が4を示したものの、及び全てが0を示したものの、ならびに無効のものが1例もなかったことである。

実施例 3

- 本剤の歯科領域に於ける臨床使用の結果を第13表にまとめた。なお本剤の使用方法は
- ①本剤2%乾燥菌体を直接患部に貼める方法
 - ②本剤を生理的食塩水で溶解し、その溶解液を注射で注入する方法
 - ③本剤を水で溶いて、うがいをする方法
 - ④本剤のクリームを作り、患部に塗布する方法
- など、患部の状態により、適宜実施した著しい効果は++、良好なる効果+、効果あり+、効果なし-と記した。

第 13 表

地	患者名	性	年	部位及び診断名	手術方法	本剤投与方法	効果
1	K B	♂	37	1) 歯齦腫痛	抜歯	①	+
2	T A	♂	25	"	せず	②	+
3	R O	♀	46	"	せず	③	+
4	E M	♀	22	"	せず	④	+
5	U A	♂	19	2) 歯根膜炎	抜歯	①	+
6	T H	♂	40	"	"	②	+
7	T M	♂	57	3) 歯周膿瘍	せず	③	+
8	R M	♂	60	"	"	④	+
9	M M	♂	21	4) 歯根膿瘍	せず	⑤	+
10	R T	♀	34	"	"	⑥	+
11	M M	♀	30	"	抜歯	⑦	+
12	M M	♀	27	5) 歯根膜炎	"	⑧	+

表から明らかには、ほとんどどの患者に高い治療効果が認められた。
 著者「昭」52年10月25日

(48)

実施例 4

会陰裂傷、会陰側切開手術後の腫脹、疼痛に対して、本剤を応用した。

本剤をクリーム状にして、1日数回局所に塗布した、また裂傷の大きな場合においては、抗生物質ならびに蛋白分解酵素剤を併用した患者も存する。

会陰裂傷、会陰側切開手術後の腫脹、疼痛に対して本剤を応用した、本剤をクリーム状にして1日数回局所に塗布した、又裂傷の大きな患者においては、抗生物質ならびに蛋白分解酵素剤を併用した。

結果を第14表に示した。

第 14 表

地	氏名	年齢	病名	腫脹の程度	疼痛の程度	癒合	塗布量	塗り回数	経過
1	R M	26	初産	+	+	+	3回	3回	塗布2日目、腫脹、疼痛、良好
2	R M	24	"	+	+	+	"	"	同上
3	M A	30	"	+	+	+	"	4回	塗布2日目腫脹、疼痛、良好
4	T B	21	"	+	+	+	"	3回	同上
5	M M	29	会陰側切開術後	+	+	+	3回 40% 抗生物質 蛋白分解 酵素	4回	同上

治療成績は、5例中6例とも有効であつて予後不良のものはなかった。

著者「昭」52年10月25日

(50)

上記引例の疾病は、何れも今日の医学に於て強力なる抗生物質の存在するにもかかわらず、治療の困難さが常々言われている分野である。

従つてこれら感染防御治療に関する理論は、ほとんどこれら同様の作用機序より成り立つ位の感染疾病に対しても、ほぼ同様にあてはめる事が出来るのである。

実施例 6

盲腸炎手術後、原因菌の排除並びに、腸所に産生された繊維素、壊死組織、胆汁、等の排除に、又病原性細菌に依る胃腸炎に、本剤を経口投与した。殆んどの場合抗生物質と併用したが、本剤未使用の場合に比較して、改善の著しいもの、良好な改善、改善の認められるもの、改善なきもの一と判定した。

なお、実験に使用した当該乳酸桿菌は、使用抗生物質に対し、耐性を付与せしめており、成人の場合1日8回、1回投与量、体重1kg当り本剤新鮮培養液3 mlを投与した。

(52)

排除が行えず、結果として、症状不良、その他期待する治療の進行成果が挙げず、再手術さらには、再々手術を行なわなければならない事も時に発生するが、表に示した以外の多くの実施の結果からも、この様な事例に遭遇した事は無い。

特許出願人 財団法人成研会

代理人 弁護士水田一孝

(54)

No	性	年	手術名	備考	手術後の経過	効果
1	♂	38	虫垂切除		順調に経過	+
2	♂	57	"		"	+
3	♀	40	"		"	+
4	♀	29	"		"	+
5	♂	35	腸炎	ビブリオ菌	"	+
6	♀	32	"	"	"	+
7	♂	18	"	サルモネラ菌	"	+
8	♂	24	"	"	"	++

表中の"は上記の如き。

第14表から明らかな如く、全て順調に経過し、本剤投与効果の高いことが判明した。

特に虫垂炎の場合、患部を切除しても、原因菌がすでに患部周辺に散在し、あるいは、原因菌に対し、使用抗生物質が十分な効果を挙げ得ず、その為、原因菌、その他腸内細菌等の徹底

(53)

特許法第17条の2の規定による補正の掲載

昭和 51 年特許願第 19226 号（特開昭 52-102419 号 昭和 52 年 8 月 27 日 発行 公開特許公報 52-1025 号掲載）については特許法第17条の2の規定による補正があったので下記のとおり掲載する。 3（2）

Int. Cl.	識別記号	庁内整理番号
A61K 35/74		7138-4C
39/02		6408-4C

手続補正書

昭和58年2月27日

特許庁長官 若杉和夫 殿

（特許庁審査官）

1. 事件の表示

昭和 51 年特許願第 19226 号

2. 発明の名称

乳酸桿菌製剤

3. 補正をする者

事件との関係：特許出人

名称 財団法人 成 研 会

4. 代理人

〒100 住所 東京都千代田区麹町3丁目2番5号 麹町ビル29階
麹町ビル内郵便局 私書箱第49号

栄光特許事務所 電話 (581) 5560 (代表)

氏名 井理士 (8107) 佐々木 清 補正 (ほか 2 名)

5. 補正命令の日付（自 発）

昭和 年 月 日（先送付：昭和 年 月 日）

6. 補正により増加する発明の数 0

7. 補正の対象

明細書全文。

8. 補正の内容

添付の通り。

明 細 書

1. 発明の名称

乳酸桿菌製剤

2. 特許請求の範囲

1. (S-W) 培地または (S-W) 培地 + ビタミンまたは / および カザミノ酸の何れかの培地に酸化ソーダ、アンモニアまたは酢酸の単独または組合せを添加することによつて発育可能または発育促進を示す乳酸桿菌の生菌からなる感染の予防または感染症の治療に有用な乳酸桿菌製剤。

2. 乳酸桿菌が胆汁抵抗性を有している菌である特許請求の範囲第1項に記載の乳酸桿菌製剤。

3. 乳酸桿菌が抗生物質を生成する菌である特許請求の範囲第1項に記載の乳酸桿菌製剤。

4. 乳酸桿菌が各種の抗菌剤に対して抵抗性を有する菌である特許請求の範囲第1項に記載の乳酸桿菌製剤。

3. 発明の詳細な説明

本発明は現在、医学で治療に難渋している疾病

のうち、主として感染の予防並びに感染症の治療に使用される乳酸桿菌を含有する乳酸桿菌製剤に関するものである。

細菌が生体内に侵入して増殖することを感染と呼称するが、一度細菌が、生体内で増殖を始め、それに対して生体が種々の反応を示し出す（感染症と呼称）と発熱、発赤、腫脹など種々な現象が現われる。この時点で、抗生物質など薬剤の使用が適切であると感染症は治癒に向うべきものである。

ところで抗生物質使用の時期を失したり、使用法が不適切であつたり、途中で使用が中断されたり、或は飲酒など、とにかく予想外の種々な行為があつたり、又抗生物質が局所に充分に到達しないと言う様な種々な現象が病原菌の被感染体よりの換滅乃至は排除を妨害し、治療が不成功に終る場合が非常に多く、かくて感染症は、場合によつては、長期化し、或いは、一層悪化して現代の医学では治癒の困難な疾病へと転化して行くが、本発明の乳酸桿菌製剤（以下本剤と略称する。）は、

かかる疾病に対して特に有効である。

それらの代表として、難疾に属する場合のある鼻炎、胃腸炎、歯槽膿漏、会陰裂傷、並びに痔疾の場合等を引用して、本剤使用による炎症治癒のメカニズム、及び治療例等を詳細に説明する。

(I) 鼻炎

風邪をひいて鼻汁が出ている所へ、何等かの理由で病原性を有する細菌が感染し、鼻腔内で多量に増殖し、毒素を形成し始める場合がしばしば存在する。毒素に対して生体は反応して所謂炎症が発生し、その程度や質により異なるとはいえ、各種物質が滲出し、漸次その様相は激しさを増し、抗生物質を用いても鼻汁は一層粘稠で、これら薬剤はかかる粘性液や膿を突破し難く、治療は困難を極める。さらに、消炎薬の併用さえも、かかる症状に対しては、病状の進行を遅滞せしめる程度で、期待するほどの効果を実現し得ないのが現状である。

以上の事は唯単に抗生物質の使用では完全に治療されない場合も多い事を物語っており、か

かる状況に於いては薬剤への抵抗株が出現し、且つ漸次疾病は慢性化の度を進め悪化する等の二次反応が必ずみられ、ほとんどの場合、良い結果になり得ない。この様な場合、一般に残された治療法の一つは患部の摘出であるが、かかる外科的手段に依る場合も、又は依らない場合も、本剤（この場合、抗生物質を形成する菌を使用した本剤が好適である。）の適切を使用が有効で、該本剤を炎症部に多量に、場合によっては、頻度高く使用すると、漸次菌の交代現象が起こり、患者の状態に依つても異なるが、早い場合2日後、遅い時でも15日前後で明瞭に病原菌の退去が現われ、それと共に漸次炎症、腫脹の緩解、消散、粘性膿液の融解、減少、病巣面の清浄化等、症状が明らかに治癒に向つていくことが確認された。この場合、ワサビ、トウガラシ、カレー等、乳酸菌に対して抗菌性を示す物質ないし、抗生物質のごとき薬剤が鼻腔中に侵入すると場合によつて治療の進捗状況が著しく増進する事がある。これは主として、該

抗菌性物質が本剤の乳酸桿菌の増殖を抑制するからで、この様な場合には予め上記物質に対して耐性にした本剤を使用する事が是非とも肝要である。

さらに、副鼻腔炎等に於いて、抗生物質、消炎薬を併用する療法は、現在、好んで用いられている療法の一つであるが、かかる最新の療法に於いても膿汁の形成著しく、改善のきざしの見え難い患者もしばしばで、かかる場合、外科的処置を要するのが普通である。

しかし本剤を用いる事により、外科的処置に至らず治療した例がかなり存する。

(II) 胃腸炎

その重要原因の1つは病原微生物の感染である。胃腸炎は一般に知られる危険症状以外に、盲腸より、漸次排出される炎症起因の病原菌がその上下腸管に分散して生存し、盲腸摘出手術後も依然として残るのが普通で、かくの如き感染症に於いては、その局部を排除しても病原菌がその付近に散在し、頑強に生存し、あるいは、腔

内感染に於けるが如く、患者や医師の思わくとは別途に汚染される場合もあり、しかも此の様な現象はある程度は防ぎようがないもので、一般には抗生物質の多量使用により切り抜けているが、それでも病原菌の増殖する事はしばしばで、この様な場合も本剤を使用すれば、本剤の乳酸桿菌が炎症時同様、術後も生体内に生存する病原菌、生体反応として存在する細胞や膿液を中心とする排泄物や滲出液を黄化ないし変性せしめて治癒転点は早い場合が認められる。此の様な場合も抗生物質の使用は繁く、従つて腸には抗菌剤に対して抵抗性を付与せしめておく事は当然である。

(III) 胃腸炎

その他、病原性細菌に依る胃腸炎、例えば腸炎ビブリオ、赤痢、サルモネラなどの菌による炎症に於いては、患者が抵抗力のない場合（例えば乳幼児、老人）衰弱して、現在でも死に至る場合も稀ではないが、通常は適切な抗生物質の使用で数日を経過して徐々に治癒へと向う。し

かしこれらの病原細菌の中には、使用される抗生物質に耐性を持つ菌株もかなり存在し、この様な場合、抗生物質のみでは快復は望み得ず、さらには慢性型の疾病へと移行し、往々にして二次的疾患の発病が追尾する。よつて慢性化する前に治癒せしめる事は医術上最も大切な事であり、そのためには本剤の多量投与ないし抗生物質との併用が望ましい。また適切な薬物での投与で数日を経て治癒の方向にある場合さえも、本発明製剤の投与により、患部の著しい緩解と原因の抜本的除去とを図り、よつて快復を早める手段の採用が推奨される。

(iii) 喀痰

喀痰は膿汁などと同様、生体の一病理反応として形成され、それが又、生体への刺激物となつてさらに喀痰が形成されるもので、病状が進行すればその形成はとめどのないものである。それは慢性の副鼻腔炎において見られるのと同質のものである。これらの場合も腸内におけると同様に喀痰中の栄養が本発明乳酸菌によつて資

炎症と浮腫などの併存した歯周の状態が著しく改善され、色調が良くなる。

すなわち緊急を要する局処の病原菌や、細菌の殺滅には、抗生物質を使用し、しかる後生体反発的炎症像の改善には清浄化作用の強い本剤が使用されるのである。

(iv) 痔

痔の原因については従来極めて多くの解釈が行なわれて来たが、概く最近に到つてその解釈は比較的整然と統一されたものとなつた。

その原因の第一は病原細菌の感染、すなわち原因菌の種類と量に深く係わり、第2は腸内細菌すなわち糞性感染と大なる相関関係が存在し、第3は腸管ならびに肛門部位の構造自体、第4は局所への刺激の大小及び連続の度合、すなわち便の固さや便秘など、第5は生体の反応の仕方すなわち傷のつき具合、その部位の回復力、すなわち体質、第6はうつ血の程度、形などに關係を有する。以上の事柄を再度検討すれば痔の原因の内の特質である創傷、裂傷、及び細菌

化、分解、乃至毒性されて結果として清浄化される。

(v) 歯周炎

例えば抗生物質及び消炎酵素で炎症部位の退散を計つた場合、それが不十分に行なわれる場合がしばしばある。それは菌が抗生物質及び消炎酵素及び生体の反撃力で退散せず、生存繁殖している場合で最も良く観察出来る例として、歯槽膿瘍などにおいて非常に高い頻度で見える事が出来る。これは薬物の効果が不充分である事も勿論であろうが、病原菌の歯量が著しく減少した時点でなお歯周組織の修復が完全でない事に主たる原因がある。

その場合、口腔中及び歯間、歯周中などに残存している細菌及び病原菌が、その内に再び活動するようになつて、元の悪い状態に近く復元してしまふ。此の様な疾病において、病原菌の減少した時点では、殊に本剤を投与する事が何よりも大切である。それによつて残存していた病原菌は本剤の乳酸桿菌と菌量比の逆転が生じ、

感染症の内で如何に裂傷が生じてもこれのみでは日常生活をおびやかす重篤なる痔疾になる事は少ない。すなわち細菌感染症を主因とする幾つかの原因の複合による排除し難い肛門部及びその周辺の炎症と言う事が出来る。

そして、その形態、症状、程度は原因菌の種類や腸内細菌との相関、生体の反応力、刺激の程度、部位などによつて全く区々であつて、そのため必ずしも同一視し同一場で論ずる事が適切ではないが、痔は大抵の場合原因として細菌感染が一枚加わっている事は動かし難い事実である。その為一見異つて見える痔の各種の症状も細菌感染症の種々相として認識すべきもので、その意味では細菌感染が主因の一つたる炎症の最も典型的なモデルとして理解すべきもので、その点では咽喉頭炎や座道の裂創による各種の炎症と同様である。

以上に述べた難疾のうちで最も治癒の困難なものの一つとして、「痔」を考えるべきであるが、原因から考えて、本疾病の場合、病原菌の

種類、薬物への抵抗力の如何などを見極めると、さらに病原菌の局所浸透性の程度、依拠力などにはわかに判じ難いため、薬物の選択の問題はそれのみでも容易ではない。その上多大な菌量にのぼる腸内細菌による汚染をまぬがれる事は出来ないために、薬物の使用は対病原菌用としては適切であつても、その個人固有の腸内細菌に対して適切か否かは又別問題で、この2点に対して投与薬剤の種類の選定は一層困難となる。

しかも、それ以外にも原因が錯そうし所の種類は衆知の如く多く、治療に当つては多くの実際治療経験その他から種々の事が言われているが、今後とも長く人類を悩ます問題である事は間違いない所である。しかし本剤の使用は之れに光明を与え疾病治療分野における一つの進歩となるのである。

概括して考えてみても、第一に所疾に使用される特殊乳酸桿菌は他の生菌を大抵の場合抑制、排除する特性を有する。この事は糞便の脱臭作

用の過程で明らかにされた事実である。この作用は同様に局部に病巣を形成して生存する病原菌に対して作用し、これを抑制、排除し、あるいは菌の交代現象として現われる。またこの作用は同時に腸内細菌に対しても作用する。

そして炎症部及びその周辺に生存する原因菌を排除するのみならず次へと襲つて来る腸内細菌に対して防衛的に働くのみならず、腸内細菌叢のバランスが変化してラクトバシラスが非常に多くなり、腸内細菌中の腐敗性の菌が減少するが故に疾病局所の感染防禦における生体の負担は著しく減少する。しかも本剤が強力なる清浄化作用を有するという事実も悪臭物質の無臭化においてすでに証明されている所である。

さらに本剤には強力な抗生物質の形成菌が存在するが此の場合病原菌や雑菌に対する排斥作用は一段と強まる。その結果として痔疾症状の軽減を見る場合がかなり多く、時としてすなわち症状の始めから軽度の場合など完全治癒に近い

現象の見られる場合すら存在する。

なお、以上の感染防禦に関する解析で明らかなる如く感染部位が常に強烈なる刺激と汚染とを受ける点において、本疾病群は生体炎症中でもとくに顯著なものであつて、かくも著しく宿主に対して不利に働く感染と防禦に関する像を他に知る事は比較的少く、疾病におそわれた眼、口腔、歯周、咽喉頭、腹腔、及び生殖器等、さらに婦人科領域などにおいて手術後において見られる程度である。

なお前文中において痔疾の原因細菌として病原菌を腸内細菌と切り離して記載したが、原因たるべき菌が腸内の病原菌である場合もしばしばである。

(vi) 分娩時の会陰裂傷

本剤の経口乃至局部への直接使用は局部の腫脹、発赤並びに疼痛など炎症症状の著しい改善に役立った。

本発明者等は本剤使用の乳酸桿菌に薬剤抵抗性を付与せしめたもの、せしめないもの、又し

ばしばよく使用される香辛料に抵抗力をつけたもの、つけないものなどについての実験を行った。本剤はその効力が充分に発揮されたことが認められるまでには生体の消炎が充分に完了した事が認められなければならず、それには長期間の炎症、つまり慢性化のそれにおいてはその恢復には長期間を要するため、その間如何なる香辛料をも摂取しないなどは今日の食生活においては存在せず、実際の治療例においても此の事は認められた。そのため場合によつては香辛料抵抗性を付与せしめたり、又抗生物質抵抗性を付与せしめる事は大切な条件である。

此処では広範に行つた実験の一部実験データを記載した。

かつて赤色プロントジールやペニシリンを嚥下とする抗菌剤、抗生物質が開発され、これらは発明思想において当時は新しかつたのみならず生体への害作用が少く、かつ抗菌性を強く有したので、微生物病を含め、生体内外を問わず必要な所で広く用いられて来た。

しかしながら本剤は、サルファ剤、抗生物質さらに消炎酵素の出現にも劣らぬ新規性、高い効果と広範なる応用性を有している。その第一の理由は各種感染症に関する前記の記事から明らかごとく、一般の化膿性炎の形をとるものについては生体は各種の外敵の消滅努力がはらわれ、そこには病理学の教える所の炎症像が認められ種々の滲出物が形成される。これらの物質を本発明の乳酸桿菌は栄養として摂取、ないし変性せしめ究極的に浄化するゆえである。

本来、本剤は経口的に投与して、排便時すでに糞便特異臭を著しく減弱せしめる著しい特徴を有する。すなわち10⁸個/8以上に及ぶ多数の菌が定着し、すでに固有菌叢を形成し終っている腸内で、それらに対して優位性を獲得しながら自己が増殖する。

これは本剤の乳酸桿菌がほとんどの腸内細菌よりも増殖速度が速く、栄養要求が低く、かつ抗生物質を形成するなどのため他の腸内細菌との生存競争に打ち勝つ能力を有するからである。

を物断つている。しかも清浄化作用がある事も又脱臭時証明済である（無臭化とは清浄化作用の一つの現われである。）。かくて該乳酸菌は一時は極めて良く増殖するが、栄養物としての炎症滲出物の衰退とともに消滅する。

本剤の効果を纏めると、一般に抗生物質がただそこに存在する細菌を殺滅するのみの作用を有するに對し、本剤は①病原性が認められず、②抗生物質を形成して細菌を殺害し、③細菌ないし病原菌との発育競争で勝利し、④悪性を含む生体代謝産物を自己の菌体成分に変化せしめるか、あるいは変性せしめ、⑤その結果局所の清浄化も進み、⑥消炎、抗腫脹作用が認められるに到り、⑦最終的には炎症が鎮静すれば該乳酸桿菌は生体内では異物であるが又非病原であるためついには生体内で摂取される。よつて以上に述べて来た病因論からみても又実施成績から見ても生体構造上、使用不可能な所を除いては本剤が広く用いられてかなりの効果をあげる事が出来る。

又糞便中の悪臭物質の種類は例えば各種アミン、低級脂肪酸、アンモニア、硫黄化合物など極めて多く、それらは大抵の場合ある量を超えると生体に有毒性を現わすが、此等が本剤の使用により無臭化されると言う事は此等の物質が著しく減少したか、形を変えた事の証拠であり、菌がこれらの物質を自己の体成分としたか、変性せしめたからに他ならない。

しかもこれらの事が悪臭物質を形成する腸内細菌の多数の存在下でそれらの働きを抑えながら行われるのである。本発明の最重要点の一つはこの点にあり、腸内において示されたかかる特性と能力は他の感染部位、感染症においても遺憾なく発揮される。炎症時生体内において遊走して来る細胞や滲出液を本菌は栄養とするのであるが、その速度は極めて早く他の菌につけ入る隙を与えず、菌叢の逆転つまり菌交代現象が見られるのである。

上記の幾つかの治療例は何れも本剤の乳酸桿菌が疾病の原因菌との生存競争に打ち勝つた事

又此等の作用は、消炎抗腫脹、緩解性の酵素との併用により一層効果的な場合のある事も確かめられた。すなわちかかる作用効果の酵素の使用のみでは基本的には炎症の原因が微生物による場合、これらの微生物を一掃し去る事は不可能で、その為抗生物質を使用するのであるが、炎症腫脹の軽減は認められても、充分なる効果の認め難い場合も多くかかる場合、本剤の使用により菌の交代現象が生じ結果として、著効を現はす場合が少くない。

次に、本剤において使用する菌群の病原性の有無について元来、細菌学の歴史はバクトール（Lactobacillus）に関する研究から始まった（1857）。爾来枚挙にいとまないラクトバシラス（Lactobacillus）に関する研究においても本群細菌が病原性を有するという積極的な証拠となる学術報告はないとさえ言われている。今日信用あるものとされるラクトバシラスに関する論文でも動植物に対して病原性はないと記されているし、バーゴース・マニアル（Bergey's

Manial)(1974)においても、該菌群に属するもので病原性のものは極めて稀有である事が明記されている。

本発明者等の研究でラクトバシラスは生体にとって、ことに粘膜部において必須に近いことが判明しており、少くとも口腔内、腸内、膣内でラクトバシラスは必須である。例えば膣部においてラクトバシラスの欠損している場合、膣の正常状態を維持することはほとんど不可能で、現在では膣部の健康程度の診断における一重要項目となつている。

ところで本発明に使用される菌は、分類学上は明確にラクトバシラスに属しながら、従来知られなかつた点を有する菌群であるため、非病原か否かについては従来全く知られざる所である。

本質的問題として、先づ本発明に使用する新菌群が真の意味においてラクトバシラスに属するか否かの点がある。もし間違ひなくラクトバシラスに属しているならば非病原の可能性はそ

などの中からの方が、より求め易い感が強かつたにかかわらず、困難を承知でラクトバシラスから求めれども、古来、非病原である事が認められているに止らず、むしろ有益菌として理解する事が真実ないし真実に近いものと思われ、ことに腸内における細菌叢中の有力メンバーであり、さらには最重要不可欠の菌として受けとめるのが正鵠を得たものと推測される点にあつた。

事実、実験開始の当初、たとえ希望通りの脱臭菌が分離発掘出来たとして、経口投与により、排便の生理、その他日常生活にいちじるしい異常性を与える懸念を強く抱いたにもかかわらず、かかる作用菌を分離し、その後種々のテストを行うに到る原動力となつた一つは、かかる観点あるがゆえでもあつた。

本発明者等は各種動物にテストを行い、最終的に人間および犬において培養洗滌菌塊 (wet 0.1 g/kg) を殆んど毎日連続、ときに2、3日間隔で2ケ年に亘つて投与を続けたが、何ら病

の一点のみでも極めて高いものとなる。

本発明による新菌群は栄養要求の点を除けば、ラクトバシラスの従来の定義にすべて一致している。即ち、かかる菌は、これまでの細菌分類学上の手法によればラクトバシラスその物と言うべきであり、さらには相違点である栄養要求性については現在の所菌分類学上の鍵としては漠然とした表現の域を出ていない。

そのため本発明者等は現時点ではあくまで本発明使用菌をラクトバシラスと考えているが、百歩を譲つて将来分類学上の観点が変わり、別の部位に位置づけられる事になつても、本発明菌群がラクトバシラスに極めて近い菌群に位置づけられると考えられる。

この分類学上ラクトバシラスその物、又は百歩を譲つてもそれに近縁の菌という点は本発明使用菌の病原性の有無について論ずる場合とくに重要である。

本発明者等が経口用脱臭菌を求めるに際し、他の菌群たとえばシュードモナス属 (*Pseudomonas*)

原性を見出す事が出来なかつたのみならず、被検台となつた人間のすべてから疲労の減少や健康の増進が自覚症状として認められたとの報告を受けた。又犬においても、常時獣医師にかかりつけの犬(2頭)が元気を取り戻し、獣医師の厄介を離れる事が出来たとの報告を受けた。

従つて、人間への経口投与の場合、急性毒性は否か至急性ならびに慢性毒性はまず認められない。又マウス50匹を用い、洗滌冷却濾心菌塊1g/kgを3倍量の生理食塩水に懸濁、腹腔内に注入した場合、24、48、72時間、更には1週間、1ヶ月、3ヶ月後においても、対照と何ら相違を認める事が出来なかつた。即ち、この注入量を体重60kgの人間に応用したとすれば、60gの菌塊を腹腔内に注入してなお急性から至急性に亘り異常を認め得ない事を意味しており、病原性については何ら心配がない。

従つて本発明はStepheuson-Whetham 培地〔以下(S-W)培地と記す〕または(S-W)培地+ビタミンまたは/およびカザミノ酸の何れ

かの培地に促化ソーダ、アンモニアまたは酢酸の単独または組合せを添加することによつて発育可能か発育促進を示す乳酸桿菌の生産からなる感染の予防または感染症の治療に有用な乳酸桿菌製剤を提供するものである。

次に本発明等によつて、分離培養に成功した本発明の乳酸桿菌の性質、ならびに製造法を下記に詳細説明する。

(i) 胆汁抵抗性

本菌が腸内に於いて、充分によく活躍し得る為には、胆汁に対して抵抗性もしくは緩和性を有している事は必要不可欠である。

本剤に使用される代表的な菌株すなわち微工研菌寄第 1946 号菌の胆汁抵抗性を第 1 表に示した。

本発明者らが分離に成功した本剤に使用可能な他の乳酸桿菌群の代表例としての微工研菌寄第 2779 号菌、微工研菌寄第 2780 号菌、微工研菌寄第 2781 号菌、微工研菌寄第 2782 号菌に付いても、基礎培地により多少

の違いはあれ、胆汁に対して第 1946 号菌と、ほぼ同様の成績を示した。即ち、何れの菌株も 4 重量 %、胆汁末添加の培地で充分よく増殖し得た。

勿論胆汁抵抗性を有しない本剤も使用部位によつては充分その効果を發揮する。

第 1 表

培 地	胆 汁 末				
	0%	1%	2%	3%	4%
(S-W) 培地+カザミノ酸 1g	+	+	+	++	+
(S-W) 培地+Na ₂ S·9H ₂ O 1g	+	+	+	++	+
肉エキスパイヨン	+	+	+	++	+

■ + よく発育

■■ ++ 更によく発育

■■■ +++ と ++ の中間の発育度

(S-W) 培地の組成: KH₂PO₄ 1g, MgSO₄·7H₂O 0.7g,

NaCl 1g, (NH₄)₂HPO₄ 4g,

FeSO₄·7H₂O 0.03g, グルコース 5g.

(ii) 栄養要求性

従来既知の乳酸桿菌がアミノ酸、ペプチド、核酸関連物質、ビタミン、塩類脂防酸又はそのエステル類等を発育に必要とするのに反して、本発明の乳酸桿菌は一般の乳酸桿菌に較べ栄養要求が著しく低いにもかかわらず、2 日以内程度の短い期間でよく発育増殖し、乳酸を形成する。

基礎培地として (S-W) 培地及び (S-W) + 寒天の培地を使用して増殖した結果を第 2 表に示した。

第 2 表

菌株名 (独立研番号)	基礎培地	基礎培地に加える物質名 (ビタミン:0.02g) (他の物質は各 1g)										
		無添加	含硫アミノ酸	環状アミノ酸	鎖状アミノ酸	システイン	システチン	メチオニン	カザミノ酸	カザタミノ酸	酵母エタノール	酵母エタノール
1946	(A)	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+
	(B)	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+
2779	(A)	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+
	(B)	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+
2780	(A)	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+
	(B)	-	+	-	-	-	-	-	+	+	+	+
2781	(A)	-	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+
	(B)	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
2782	(A)	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+
	(B)	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+

(A) : (S-W) 培地、(B) (S-W) 培地 (+ 瘧天)

+: 普通の発育程度;

++ : よく発育している; ++ 非常によい発育程度;

+: わずかに発育している程度;

- : 発育しない。

(S-W) 培地組成: KH_2PO_4 1g, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.7g, NaCl 1g, $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ 4g, $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.03g, グルコース 5g。

(イ) 増殖速度 (μ)

本発明の乳酸桿菌は第3表に示す如く、低栄養培地にかかわらず驚くべき増殖速度を示す。対照として一般の大腸菌の場合の数値も記した。

第 3 表

基礎培地: (S-W) 培地

菌株 (独立研番号)	項目 基礎培地に 添加する成分	μ	S, N, C, 並びに含硫 アミノ酸	大腸菌
1946	含硫アミノ酸	0.53	必	0.4
2781	S, N, C	0.53	必	0.35
2780	ビタミン	0.49	促	0.38
2779	ビタミン・含硫 アミノ酸	0.48	必	0.43
2782	ビタミン・含硫 アミノ酸	0.48	必	0.43

物質添加量は第2表の場合と同じ。

S : S-化合物 $\text{Na}_2\text{S} \cdot 9\text{H}_2\text{O}$ 又は N_2S

N : N-化合物 アンモニア又はインドール又は
スカトール

C : C-化合物 低級脂肪酸 (酢酸、酪酸など)

必 : 発育に必須 促 : 発育促進を示す。

即ち、従来既知のラクトバシラスが、栄養要求が高く、かつ発育速度も病原菌に比して大きくない場合も多いのに対して、本発明の乳酸桿菌は一般に知られる病原菌との発育競争に打ち勝つ性能を有している。

(ロ) 本発明の乳酸桿菌の鏡検並びに、培養所見を第4表-1および-2に、一般生化学的性状を第5表に、糖分解性を第6表に示した。

第 4 表 - 1 形 態

菌株番号	1946	2779	2780	2781	2782
細胞の形 および大きさ	短～中桿菌 両端は丸い 0.8～4 μ	短桿菌 両端は丸い 1～3.5 μ	球桿菌 両端は丸い 1～3 μ	球桿菌 両端は丸い 1～2.5 μ	短桿菌 両端は丸い 0.8～3 μ
細胞の多形性 の有無	無	無	無	無	無
運 動 性	-	-	-	-	-
胞子、莢膜	-	-	-	-	-
グラム染色性	+	+	+	+	+
抗 酸 性	-	-	-	-	-

(注) 上記の形態は、肉汁培地に培養した時の結果であるが、
肉汁寒天に培養した場合も同形態を示した。(37℃培養)

第 4 表 - 2 各種培地に於ける生育状態

菌株番号	1946	2779	2780	2781	2782
肉汁寒天 平板培養	培養開始後、12時間目 頃よりコロニー出現。 72時間目のコロニー形 状は円形、直径2mm、隆 起は半球状、表面平滑、 微潤、乳白色、不透明、 光沢	培養開始後、15時間目 頃よりコロニー出現。 72時間目のコロニー形 状は円形、直径1.5mm、 隆起は半球状、表面平滑、 微潤、乳白色、不透明、 光沢	左 同	培養開始後、15時間目 頃よりコロニー出現。 72時間目のコロニー形 状は円形、直径1.5mm、 隆起は薄い、表面平滑、 微潤、乳白色、不透明、 光沢	培養開始後、15時間目 頃よりコロニー出現。 72時間目のコロニー形 状は円形、直径1.2mm、 隆起は中、表面平滑、微 潤、乳白色、不透明、 光沢
肉汁寒天 斜面培養	培養開始後、10時間目 頃より薄く生育してくる。 72時間目の斜面の色は、 乳白色、光沢、隆起は中 ～厚、拡散性色素はない。	左 同	左 同	左 同	左 同
肉汁液体 培養	全体発育する。 72時間目では不透明と なる。 菌数： 4×10^9 /ml	全体発育する。但し、 表面付近はやや増殖悪し、 72時間目で、不透明と なる。 菌数： 3×10^9 /ml	左 同 菌数： 3×10^9 /ml	左 同 菌数： 2.5×10^9 /ml	左 同 菌数： 3×10^9 /ml
肉汁ゼラチ ン穿刺培養	穿刺した部位のみ発育。 ゼラチン液化はない	左 同	左 同	左 同	左 同
リトマスミ ルク	酸形成 ミルク凝固	左 同	左 同	左 同	左 同

(培養温度 37℃)

第 5 表 生理学的性質——その 1

工 研 研 究 所	1946	2779	2780	2781	2782
硝酸塩の還元	—	—	—	—	—
脱 窒 反 応	—	—	—	—	—
M R テ ス ト	+	+	+	+	+
V P テ ス ト	—	—	—	—	—
インドールの生成	—	—	—	—	—
硫化水素の生成	—	—	—	—	—
デンプンの加水分解	+	+	+	+	+
クエン酸の利用	—	—	—	—	—
無機窒素の利用 NO_3^- , NH_4^+	アミノ酸又は、ビタミンの存在下で NH_4^+ を利用する。 NO_3^- は利用しない	アミノ酸の存在下で NH_4^+ を利用する。 左 同	アミノ酸又はビタミンの存在下で NH_4^+ を利用する 左 同	アミノ酸又はビタミンの存在下で NH_4^+ を利用する 左 同	アミノ酸の存在下で NH_4^+ を利用する。 左 同
クレアゼ	—	—	—	—	—
オキシダーゼ	—	—	—	—	—
カタラーゼ	—	—	—	—	—
酸素に対する 耐 度	嫌氣的 ないし 微好氣的	左 同	左 同	左 同	左 同
O-F テ ス ト	F	F	F	F	F
色素の生成	—	—	—	—	—
発 育 温 度	18℃～45℃	18℃～45℃	15℃～45℃	18℃～45℃	18℃～45℃
範 囲 p.H.	4～9.8	3.5～9.8	3.5～9.8	4～9.5	4～9.5

第 6 表 生理学的性質——その 2

工 研 研 究 所	1946	2779	2780	2781	2782
L-アラビノース	—	—	+	—	—
D-キシロース	—	—	—	—	+
D-グルコース	+	+	+	+	+
D-マンノース	—	+	+	+	+
D-フラクトース	—	+	+	+	+
D-ガラクトース	+	+	+	+	+
麦芽糖	+	+	+	+	+
麻 糖	+	+	+	+	+
乳 糖	+	+	+	+	+
トレハロース	+	+	+	+	+
D-ソルビット	—	—	—	—	+
D-マンニット	—	—	—	—	—
イノシット	—	—	—	—	—
グリセリン	+	+	+	+	+
デンプン	+	+	+	+	+

7日培養の成績（培養温度 37℃）

何れもガス産生はない。

(四) 抗生物質産生能

ラクトバシラスの中には抗生物質を産生する菌株が存在する事は既知の事実であるが、本発明の乳酸桿菌は、全て抗生物質を形成する能力を有する。この能力により他菌の発育増殖を抑制せしめ、胆汁、唾液、尿液、その他有毒物質が生成されていく過程を阻止し、本発明の乳酸桿菌の種々の活性能が一段と高まるのである。普通寒天+デンプン3g+ビタミン0.02gの培地で、シャーレの中央に本菌を条状培養し、37℃、2日先行後、グラム+菌の代表としてブドウ球菌、グラム-菌の代表として大腸菌を塗布した場合の阻止距離の1例を第7表に示した。

実際には培地組成、経代方法、保存方法などにより、第7表に示したよりも数倍量の抗生物質を形成する場合、又は殆んど形成しない場合もある。

第 7 表

菌株名 (殺工研菌番号)	抗菌力	阻止距離 (48 hrs 先行培養)	
		ブドウ球菌	大腸菌
1946		20 mm	24 mm
2779		15 mm	18 mm
2780		15 mm	20 mm
2781		12 mm	15 mm
2782		18 mm	22 mm

(4) 次に本発明に使用される乳酸桿菌が糞便中の各種有機成分を培地に添加することによって、基礎培地により幾分か異なるが、発育必須となつたり、発育刺激を受ける様子を第8表に示した。なお表に示した以外のS、N、C、物質の添加によつてもよく似た成績を得た。

なお、従来既知のラクトバシラスは栄養良好なる発育可能培地、例えば乳酸桿菌のための代表的培地であるMRSの如き培地を使用した場合、酢酸の添加により発育が刺激される事が知られているが、それたあくまでも良好な培地組

成中であつて、本発明のラクトバシラスにおける如き低栄養培地においては本来発育出来るものではなく、従つて酢酸の添加によつて発育刺激を受けることもない。

そして本発明に使用される乳酸桿菌は第9表の低栄養ないし中栄養のより低い栄養の培地において酢酸添加によつて発育刺激を受けるが、中栄養の上以上の栄養の良好な培地においては酢酸の添加によつて発育刺激を受けることはない。

なお従来知られているラクトバシラスには本発明でいう低栄養ないし中栄養の下以下の培地に酢酸を添加した場合、発育が促進される菌は知られていない。

第 8 表

菌株名 (殺工研菌番号)	基礎培地	基礎培地に加える物質名 (物質添加量: 各1g)							
		無添加	酢酸	アミノニア	プロピオン酸	Na ₂ S·9H ₂ O	酪酸	スクトール	糞便汁
1946	A	—	+	+	+	+	+	+	+
	B	—	+	+	+	+	+	+	+
	C	+	+	+	+	+	+	+	+
	D	+	+	+	+	+	+	+	+
2779	A	—	—	—	—	—	—	—	+
	B	—	—	—	—	—	—	—	+
	C	+	+	+	+	+	+	+	+
	D	+	+	+	+	+	+	+	+
2780	A	—	—	—	—	—	—	—	+
	B	—	—	—	—	—	—	—	+
	C	+	+	+	+	+	+	+	+
	D	+	+	+	+	+	+	+	+
2781	A	—	+	+	+	+	+	+	+
	B	—	+	+	+	+	+	+	+
	C	+	+	+	+	+	+	+	+
	D	+	+	+	+	+	+	+	+
2782	A	—	—	—	—	—	—	—	+
	B	—	—	—	—	—	—	—	+
	C	+	+	+	+	+	+	+	+
	D	+	+	+	+	+	+	+	+

(A): (S-W) 培地
(B): (S-W) 培地 (+寒天)
(C): ペプトン8g, グルコース2g
(D): ペプトン10g, 肉抽出物5g
NaCl 5g, グルコース1g

第 9 表

	公知の乳酸桿菌	脱酸性乳酸桿菌
低栄養	発育しない	条件(A)によつて発育必須か又は発育促進を受ける。
中 栄 養	下 発育しなくても、条件(A)によつても無反応か、又は発育阻止の傾向。	条件(A)によつて発育促進を受ける。
	中 C物質の添加によつて発育促進を受ける場合も存在する(培養初期)。N物質、S物質の添加はむしろ発育阻止の傾向(培養全期)。	条件(A)によつて、基礎となる培地組成によつて、発育促進を受ける場合もあるが無反応の場合もある。
	上 C物質の添加により発育促進を受ける場合も存在する(培養初期)。N物質、S物質の添加はむしろ発育阻止の傾向(培養初期)。	条件(A)によつて発育促進は認め難い。
高栄養	C物質の添加によつて培養初期に発育促進を受ける。S物質、N物質の添加は無反応である。	条件(A)によつても発育必須又は発育促進は認めず。
備 考	条件(A)に各栄養培地に加える物質 S物質……Na ₂ S·9H ₂ O、 N物質……NH ₃ 、スクトール、又はインドール C物質……酢酸 添加量……何れも 1g/1000ml	

第9表に示す低栄養、中栄養ならびに高栄養の培地とは乳酸桿菌の菌学的特徴に鑑みてこの3群に大きく分類し、さらに中栄養を3分類したもので、勿論他の細菌にそのままではまるべき性質のものではない。

なお、ここに示す低栄養培地の組成は最高(S-W)+ビタミンズ0.02g+含硫アミノ酸1g(3種混合)までで、ビタミンズの替りに特定のビタミンで、また含硫アミノ酸(3種混合)の替りに特定の含硫アミノ酸で代用してもよく、また両者を全く含まないものでもよい。

即ち、上述に示した培地組成以下の栄養の場合の菌を本文の低栄養培地と呼称することとする(第3表参照)。

又、第9表で示した中栄養培地の下とは④(S-W)+ビタミンズ0.02g+カザミノ酸1g並びに⑤ペプトン3gを基調とせるもので、この基調となる培地に他の栄養有機物質(例えば、酵母エキス、肉エキス等)を単独又は複合添加したもの(合計添加量0.2g以内)を中栄養の中と呼称す

を助けるという意味で非常に重要であるが、この能力が存在していなくても場合によつては充分効果を発揮し得ることが実験の結果から明らかとなった。

本発明による乳酸桿菌(微工研菌寄番号:1946, 2779, 2780, 2781, 2782)の分離採取方法ならびに該菌の検鏡・培養所見、生化学的性状は特公昭57-49193号公報に記載されている通りである。

本剤の実施例を示せば下記の通りである。

実施例 1

本発明の乳酸桿菌(微工研菌寄第1946号)を下記培地組成

脱脂ミルク	15g
酵母エキス	5g
CaCO ₃	3g

で pH=7.4 なる培地に37℃、3日間静置培養し、ついで冷却遠心分離により集菌し、真空凍結乾燥によつて乳酸桿菌製剤を製造した。

実施例 2

ることとする。又、中栄養の上とは、高栄養培地組成と同じで、その栄養含有量が1/5~1/3のものと規定した。なお、低栄養の場合と同様K④のビタミンズとカザミノ酸の代りに何らかのビタミンと何らかのアミノ酸を(S-W)培地に添加したのも中栄養培地として包含される。

又、高栄養培地とは、過去数多くの文献で紹介された様な乳酸桿菌の増殖用に極めて良く適している培地であつて、例えばMRS培地などで、これに限らず菌学的特徴から従来よく知られている乳酸桿菌が良く増殖出来る培地組成であれば如何でもよく、アミノ酸類、ペプチド、核酸関連物質、ビタミンズ、無機塩類、脂肪酸又はそのエステル、糖類などを程よく包含している培地であればよい。

なお、前記乳酸桿菌5株は1例であつて、以上の様な性質を兼ね備えている乳酸桿菌ならば効力の差はあるとしても何れも本剤に使用することが出来る。

また、抗生物質産生能は、側面から該菌の働き

本発明の乳酸桿菌(微工研菌寄第2782号)を下記培地組成

(S-W)培地(KH ₂ PO ₄ , MgSO ₄ ·7H ₂ O, NaCl, (NH ₄) ₂ HPO ₄ , P·SO ₄ ·7H ₂ O, グルコース)に	
Na ₂ S·9H ₂ O	0.2g
酢酸	0.7g
酪酸	0.7g
プロピオン酸	0.7g
酵母エキス	1g
Vitamines	0.1g
カザミノ酸	1g

を添加し、pH=7.4

なる培地に37℃、3日間静置培養し、ついで菌を損わない様に水分含量2%まで乾燥し、乳酸桿菌製剤を製造した。

本発明に使用される乳酸桿菌は従来公知の乳酸桿菌を培養するに当り、C物質の添加により、発育促進を示す培地以外の培地に、S物質、N物質およびC物質の何れか単独ないし何れか2者ないし何れか3者さらには、それらの複合の何れかを

添加することによつて発育必須ないし促進作用を受ける乳酸桿菌単独または複合種を含有する。

次に本発明による効果を応用例によつて詳細説明する。

応 用 例 1

急性副鼻腔炎3例、慢性副鼻腔炎5例、術後性副鼻腔炎2例の患者に本剤を投与した。

投与方法は、(a)水分含量2%の本剤（実施例1の製剤）20gを水400ccに溶解し、その溶解液で、1日2回に分けて鼻腔洗浄を連日行つた。(b)膿性鼻汁の強い患者2例には、テトラサイクリン（投与量：250mg/回で1日に4回）と併用した。①自覚症状（鼻閉、後鼻漏、鼻漏、嗅覚減退、頭痛）及び②鼻腔、鼻粘膜の病的所見（粘膜発赤、腫脹、鼻漏の多少、鼻汁の性状）③直接及びレントゲン写真よりの診断から著効4点、有効2点やや有効1点、無効0点に分けて治療開始後1週間目及び3週間目の効果の程度を第10表にまとめた。

第 10 表

1 週 目

№	患者名	年齢	性	診断名	併用薬剤	自覚症状	病的所見	レントゲン写真	平均
1	M.O.	10	♂	急性副鼻腔炎	単独	2	1	1	1.3
2	T.M.	25	♀	“	“	2	2	1	1.7
3	K.H.	44	♂	“	“	1	1	1	1
4	K.A.	20	♂	慢性副鼻腔炎	“	2	2	2	2
5	N.N.	36	♀	“	抗生物質併用	2	1	1	1.3
6	Y.E.	62	♂	“	単独	1	1	1	1
7	K.Y.	51	♀	“	“	1	1	1	1
8	Y.M.	18	♀	“	“	2	2	2	2
9	T.T.	26	♂	術後性、両慢性副鼻腔炎	抗生物質の併用	1	2	1	1.3
10	S.O.	42	♂	“	単独	2	1	2	1.7

3 週 後

(c)

№	患者名	自覚症状	病的所見	レントゲン写真	平均
1	同 上	4	2	2	2.7
2		4	4	2	3.3
3		2	2	2	2
4		4	2	2	2.7
5		2	2	1	1.7
6		2	2	1	1.7
7		2	2	2	2
8		2	2	2	2
9		2	4	2	2.7
10		4	2	2	2.7

10例の副鼻腔炎患者に本剤を使用して、主として鼻洗浄を行ないその経過を観察し、その治療効果を調べた所、表から明らかな様に、10例中著効1例、有効6例、やや有効2例の成績を得た。又これら実施例の結果、3つの検査項目の全部が0を示したものはなかった。

応 用 例 2

実施例2の製剤を用いて次の実験を行つた。

対象：疼痛、腫脹、出血を主訴とする痔核患者

10例（16～60才）

投与方法：(a)……テトラサイクリン抵抗性ラクトバシラス乾燥菌体（水分2%）のもの、1日15g、5回に分けて経口投与
(b)……同一菌体を半量のクリームに混ぜ、局部に1日5回塗布
(c)……テトラサイクリン軟膏（含有量：0.5g）を局所に1日5回先づ塗布した。

即ち、テストは(c)+(a)、(c)+(b)、(c)+(a)+(b)の3種類について先づ検討した。

効果判定：自覚症状および傍視所見とし、①自覚痛、②出血、③腫脹、④痔核の大きさの程度、⑤肛門部の異和感の5項目について、何れについても、「著効+4」、「有効+2」、「やや有効+1」、「無効0」、「悪化-2」、の5段階に分けて評価した。

判定は、7日目、14日目及び21日目とした。

第11表は投与開始後7日目および21日目のも

ので、(c)+(u)+(v)の実験成績についてのみ示した。

第 11 表

1 週 目

(u)

患者名	自覚痛	出血	腫脹	痔核の 大小	異和感	平均値
Y.T.	1	1	1	1	1	1
K.H.	2	2	1	1	1	1.4
M.M.	4	4	2	2	2	2.8
T.S.	1	1	1	1	1	1
T.H.	1	1	1	1	1	1
K.N.	2	1	1	1	1	1.2
M.O.	2	2	2	2	1	1.8
S.S.	1	1	1	1	1	1
N.H.	1	2	1	2	1	1.4
T.Y.	1	1	1	1	1	1

悪化ないし、無効のないのが特徴である。

3 週 後

(v)

患者名	自覚痛	出血	腫脹	痔核の 大小	異和感	平均値
Y.T.	2	2	2	2	2	2
K.H.	2	2	2	2	2	2
M.M.	4	4	4	2	4	3.6
T.S.	1	1	1	1	1	1
T.H.	2	2	2	2	2	2
K.N.	2	2	2	2	1	1.8
M.O.	4	4	2	2	2	2.8
S.S.	2	1	1	1	1	1.2
N.H.	2	2	2	2	2	2
T.Y.	2	1	1	1	1	1.2

これらテスト結果の特徴は、5つの検査項目の全部が4を示したものの、及び全てが0を示したものの、ならびに無効のものが1例もなかったことである。

応 用 例 3

本剤（実施例1の製剤）の齒科領域に於ける臨床使用の結果を第12表にまとめた。なお本剤の使用方法は

- ① 本剤2g乾燥固体を直接患部に貼める方法、
 - ② 本剤を生理的食塩水（本剤含有量：4g）で溶解し、その溶解液を注射で注入する方法、
 - ③ 本剤を水で溶いて、うがいをする方法（本剤含有量：5g）；なお、うがいは1日3回、1回につき3～4度うがいを行った。
 - ④ 本剤のクリーム（固：クリーム＝1：1）を作り、患部に塗布する方法、
- など、患部の状態により、適宜実施した。著しい効果は卅、良好なる効果卅、効果あり＋、効果なし－と記した。

第 12 表

患者名	性	年	部位及び診断名	手術方法	本剤投与方法	効果
1 K.S	♂	37	1) 歯齦腫瘍	抜歯	①	+
2 T.A	♂	25	2) 歯齦腫瘍	せす	②	+
3 H.O	♀	46	3) 歯齦腫瘍	せす	③	卅
4 R.M	♀	22	4) 歯齦腫瘍	せす	④	+
5 S.I	♂	19	5) 歯齦腫瘍	せす	⑤	+
6 T.H	♀	40	6) 歯齦腫瘍	抜歯	⑥	+
7 T.M	♂	57	7) 歯齦腫瘍	、	⑦	+
8 S.N	♂	60	8) 歯齦腫瘍	、	⑧	卅
9 M.N	♂	21	9) 歯齦腫瘍	せす	⑨	+
10 S.T	♂	34	10) 歯齦腫瘍	、	⑩	+
11 M.K	♀	30	11) 歯齦腫瘍	、	⑪	+
12 M.M	♀	27	12) 歯齦腫瘍	抜歯	⑫	+

第12表から明らかな様に、ほとんどの患者に高い治療効果が認められた。

実 施 例 4

会陰裂傷、会陰側切開手術後の腫脹、疼痛に対して本剤（実施例1の製剤）を応用した。

本剤をクリーム状（水分含有量2%の固の量：クリーム＝1：1）にして、1日数回局所に塗布した。また裂傷の大きな場合においては、抗生物質ならびに蛋白分解酵素剤を併用した患者も存する。

結果を第13表に示した。なお、抗生物質はテトラサイクリン軟膏（5%）を使用し、1日数回患部に塗布した。また蛋白質分解酵素はダーゼン5mg錠を使用し、1日6錠経口投与した。

第 13 表

症 例	患者名	年齢	分娩	病 名	腫脹の程度	疼痛の程度	縫 合	塗布量	塗布回数	経 過
1	W. M	26	初産	会陰裂傷	++	++	会陰縫	3回/日	3回	塗布2日目、腫脹疼痛、軽快、縫合良好
2	K. K	24	、	、	+	++	、	、	、	同 上
3	M. A	30	、	、	++	++	、	、	4回	塗布2回目、腫脹、軽快、4日目、疼痛軽快、縫合良好
4	J. S	21	、	、	++	++	、	、	3回	同 上
5	M. M	29	、	会陰側切開術後	++	++	、	3回/日 抗生物質蛋白分解酵素	4回	同 上

治療成績は5例とも有効であつて予後不良のものはなかつた。

第 14 表

上記引例の疾病は、何れも今日の医学に於て強力なる抗生物質の存在するにもかかわらず、治療の困難さが常々言われている分野である。従つてこれら感染防禦治療に関する理論は、ほとんどこれら同様の作用機序より成り立つ他の感染疾病に対しても、ほぼ同様にあてはめる事が出来るのである。

応 用 例 5

盲腸炎手術後、原因菌の排除並びに局所に産生された纖維素、壊死組織、胆汁、等の排除に、又病原性細菌に依る胃腸炎に本剤（実施例2の製剤）を経口投与した。殆んどの場合抗生物質（テトラサイクリン250mg/回で1日4回投与）と併用したが、本剤未使用の場合に比較して改善の著しいもの一、良好な改善一、改善の認められるもの十、改善なきもの一と判定した。

なお、実験に使用した当該乳酸桿菌は、使用抗生物質に対し耐性を付与せしめてあり、成人の場合1日8回、1回投与量、体重1kg当り本剤新鮮培養液3ccを投与した。結果を第14表に示す。

№	性	年	手術名	備 考	手術後の経過	効 果
1	♂	38	虫垂切除		順調に経過	++
2	♂	57	“		“	+
3	♀	40	“		“	+
4	♀	29	“		“	++
5	♂	35	腸炎	ビブリオ菌	“	++
6	♀	32	“	“	“	+
7	♂	18	“	サルモネラ菌	“	+
8	♂	24	“	“	“	++

第14表から明らかな如く、全て順調に経過し、本剤投与効果の高いことが判明した。特に虫垂炎の場合、患部を切除しても原因菌がすでに患部周辺に散在し、あるいは原因菌に対し、使用抗生物質が充分な効果を挙げ得ず、その為、原因菌その他腸内細菌等の徹底排除が行えず、結果として癒着不良、その他期待する治療の進行成果が挙げず、再手術さらには再々手術を行なわなければならない事も時に発生するが、第14表に示した結果な

らびにその他の多くの応用例の結果からもこの様な事例に遭遇しなくてもよいことがわかつた。

特許出願人 財団法人成研会

代理人 弁理士 佐々木清隆

外2名



THIS PAGE BLANK (USPTO)